

## 主 論 文 要 旨

報 告 番 号	甲 ㊦ 第	号	氏 名	金 田 宗 久
主 論 文 題 名				
Evaluation of Suppressive Effects of Tranilast on the Invasion/Metastasis Mechanism in a Murine Pancreatic Cancer Cell Line (マウス膵臓がん細胞株における浸潤・転移機構に対するトラニラストの抑制効果の解析)				
( 内 容 の 要 旨 )				
<p>浸潤性膵管癌は早期発見が困難であり、予後不良の難治性癌である。予後改善のためには切除不能例に対する治療法の確立や、術後の再発・転移を予防する新たな治療法を開発することが重要である。近年抗アレルギー薬として知られているtranilastが、種々の癌腫に対して抗腫瘍効果が示され、抗癌剤としての抗アレルギー薬の新たな側面が注目されている。今回マウス膵癌株であるPAN02を用いて、tranilastの浸潤・転移抑制効果について基礎的な研究を行い、転移阻害剤としての新たな薬剤の有用性についての検討を行った。</p> <p>1. tranilastによる増殖抑制効果 <i>in vitro</i>におけるtranilastの細胞増殖抑制効果を明らかにするために、WST assayにより増殖抑制効果を評価した。生細胞数の割合は、0<math>\mu</math>M群に対して50<math>\mu</math>M投与群でのみ有意な細胞増殖の抑制を認めた。</p> <p>2. tranilastによる運動能抑制効果 腫瘍細胞の転移に関与する因子である細胞運動能を、wound healing assayにより評価した。細胞運動の水平方向の運動能は、0<math>\mu</math>M群と比較して全てのtranilast投与群で有意な抑制を認めた。</p> <p>3. tranilastによる浸潤抑制効果 癌の転移に重要な浸潤能を明らかにするために、chemoinvasion assayにより浸潤抑制効果を検討した。0<math>\mu</math>M群に対して全てのtranilast投与群で、濃度依存的に浸潤細胞数の減少を認めた。</p> <p>4. tranilastによるマトリックスメタロプロテアーゼ2 (matrix metalloproteinase-2 : MMP-2) 活性抑制効果 細胞外マトリックスを分解し、腫瘍細胞の浸潤に関与する主要なタンパク分解酵素の一つであるMMP-2の活性について、gelatin zymographyにより観察した。MMP-2の活性は0<math>\mu</math>M群と比較して、10<math>\mu</math>M投与群で有意な活性の抑制を認めた。</p> <p>5. <i>in vivo</i>におけるtranilastによる転移抑制効果 C57BL/6Jマウスを用いて経脾的にPAN02を移植し、肝転移モデルを作成した。移植後、連日tranilastの経口投与を行い、28日目に肝表面への転移巣を計数し、肝転移抑制効果を評価した。肝転移数はコントロール群に対し、100mg/kg以上のtranilast投与群で有意に減少した。</p> <p>6. tranilastによるMMP-2の発現への影響 MMP-2が活性化するには、膜型マトリックスメタロプロテアーゼ (membrane-type 1 matrix metalloproteinase : MT1-MMP) との結合が必要であるが、この際アダプターとして組織メタロプロテアーゼ阻害物質 (tissue inhibitor of metalloproteinase-2 : TIMP-2) も結合し、複合体を形成することが必要である。MMP-2の活性を抑制することによって転移が抑制されたメカニズムを解明するために、MMP-2の活性を主に制御するTIMP-2の腫瘍先進部での発現の多寡を、免疫染色を用いて評価した。TIMP-2はコントロール群で全例において陽性を呈したが、治療群の6例中3例において著明にTIMP-2の検出が低下した。</p> <p>以上の結果から、tranilast は腫瘍細胞の運動能を抑制し、浸潤能も抑制した。浸潤能抑制はMMP-2活性の抑制だけでなく、間質から産生されるTIMP-2を抑制することによってMMP-2/MT1-MMP/TIMP-2複合体の形成を抑制し、結果としてMMP-2活性を低下させて浸潤を抑制させた。今回tranilast単剤での転移能抑制を初めて示し、そのメカニズムの一つとしてTIMP-2、MMP-2活性化抑制が重要な役割を果たしていることを明らかにした。</p>				